

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平4-320685

(43) 公開日 平成4年(1992)11月11日

(51) Int.Cl. ⁵	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 11/08	B	2121-4B		
C 0 2 F 3/00	G	6647-4D		
3/10	A	6647-4D		
C 0 8 L 29/04	L G W	6904-4 J		
33/26	L J V	7242-4 J		

審査請求 未請求 請求項の数 3 (全 5 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平3-115411

(22) 出願日 平成3年(1991)4月18日

(71) 出願人 000001085

株式会社クラレ

岡山県倉敷市酒津1621番地

(72) 発明者 藤井 弘明

岡山県岡山市海岸通1丁目2番1号 株式会社クラレ内

(72) 発明者 浜田 敏裕

岡山県岡山市海岸通1丁目2番1号 株式会社クラレ内

(72) 発明者 岡崎 正樹

大阪府大阪市北区梅田1丁目12番39号 株式会社クラレ内

(74) 代理人 弁理士 森 廣三郎

(54) 【発明の名称】 高分子ゲル

(57) 【要約】

【目的】 バイオリアクター、排水処理、養魚水系の浄化などに用いる生体触媒固定化成形物に使用する高分子ゲルであって、保存、輸送が容易で、取扱性に優れたものを提供する。

【構成】 (a) 20℃の水に24時間浸漬することにより含水率50重量%以上の含水ゲルBとなり、(b) 該含水ゲルBを乾燥することにより含水率20重量%以下の高分子ゲルCにした後に該高分子ゲルCを20℃の水に24時間浸漬することにより含水率50重量%以上の含水ゲルDになり、(c) 含水ゲルBに対する含水ゲルDの寸法変化率が-20~20%である、前記(a)~(c)の各条件を満足する含水率20重量%以下のポリビニルアルコール等の高分子ゲル。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 (a) 20℃の水に24時間浸漬することにより含水率50重量%以上の含水ゲルBとなり、(b) 該含水ゲルBを乾燥することにより含水率20重量%以下の高分子ゲルCにした後に該高分子ゲルCを20℃の水に24時間浸漬することにより含水率50重量%以上の含水ゲルDになり、(c) 含水ゲルBに対する含水ゲルDの寸法変化率が-20~20%である、上記(a)~(c)の各条件を満足する含水率20重量%以下の高分子ゲル。

【請求項2】 生体触媒を含有してなる請求項1記載の高分子ゲル。

【請求項3】 高分子ゲルがポリビニルアルコール、ポリエチレングリコール、及びポリアクリルアミドから選ばれた1種以上である請求項1又は2記載の高分子ゲル。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、バイオリアクター、排水処理、養魚水系の浄化などに用いる生体触媒固定化成形物に使用する高分子ゲルに関する。

【0002】

【従来の技術】 近年、酵素、微生物などの生体触媒を固定化して、その機能を効率よく利用する研究が行われている。生体触媒を固定化する方法の一つに、高分子素材を用いて生体触媒をそのまま包み込む包括固定化法があり、この方法によく用いられる高分子素材として、寒天、アルギン酸塩、カラギーナン、ポリアクリルアミド、ポリビニルアルコール、光硬化性樹脂等がある。このうち、ポリビニルアルコール(以下PVAと略記する)含水ゲルは、生体触媒を包括させることにより、優れた固定化担体として利用できることが知られている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 従来の高分子ゲルは大量の水を含んでいるため、重量、体積ともに大きく、保管・輸送が困難である。また、生体触媒を固定化したゲルは、それを常温下で放置すると、生体触媒が変質したり、活性低下したりするため、冷凍、エアレーション、基質の添加など、保存のための特別の操作が必要である。本発明は、以上の課題を解決するものであり、保管、輸送が容易で、取扱い性に優れたものを提供する。

【0004】

【課題を解決するための手段】 本発明は、高分子含水ゲルを乾燥させたもので、保管・輸送が非常に容易となる。しかし、通常の高分子含水ゲルは乾燥により状態が変化し、水に浸漬しても元に戻らないものが多い。アルギン酸塩、 κ -カラギーナン、寒天などの天然高分子ゲルは乾燥させると収縮し、常温の水に浸漬しても元に戻らない。そこで、鋭意検討した結果、高分子ゲルの乾燥体で特殊な作り方をしたものは常温の水に浸漬すると形状、性質が元に戻ることを見出し、本発明に至った。本

発明の高分子ゲルは下記(a)~(c)の各条件を満足する含水率が20重量%以下、好ましくは10重量%以下、より好ましくは5重量%以下の高分子ゲルである。含水率の下限値としては特に制限はないが、好ましくは1重量%以上、より好ましくは2重量%以上、更により好ましくは3重量%以上である。

(a) 20℃の水に24時間浸漬することにより含水率が50重量%以上、好ましくは70重量%以上、より好ましくは90重量%以上の含水ゲルBとなること。

(b) 該含水ゲルBを乾燥することにより含水率が20重量%以下、好ましくは10重量%以下、より好ましくは5重量%以下の高分子ゲルCにした後に、該高分子ゲルCを20℃の水に24時間浸漬することにより含水率が50重量%以上、好ましくは70重量%以上、より好ましくは90重量%以上の含水ゲルDになること。

(c) 含水ゲルBに対する含水ゲルDの寸法変化率が-20~20%、好ましくは-10~10%、より好ましくは-5~5%であること。含水ゲルBに対する含水ゲルDの含水率変化率については特に制限はないが、好ましくは-30~30%、より好ましくは-20~20%、更により好ましくは-10~10%であり、-5~5%の含水率変化率が特に好ましい。

【0005】 高分子としては特に制限はないが、ポリビニルアルコール、ポリエチレングリコール、及びポリアクリルアミドから選ばれた1種以上が好ましく、これらの中でもポリビニルアルコールが特に好ましい。以下、それぞれの高分子を例にとり、本発明を詳細に説明する。

①ポリビニルアルコールの場合

ポリビニルアルコール(PVA)を含む水溶液を原液としPVAの離液作用のある化合物水溶液に浸漬させ、PVAをゲル化させる。これを乾燥させることにより目的とするPVAゲル乾燥体を得られる。

②ポリエチレングリコールの場合

ポリエチレングリコールジメタクリレートを含む水溶液を原液とし重合開始剤と重合促進剤を添加し、ゲル化させる。これを乾燥させることにより目的とするポリエチレングリコールゲル乾燥体を得られる。

③ポリアクリルアミドの場合

アクリルアミド、メチレンビスアクリルアミドを含む水溶液を原液とし、重合開始剤と重合促進剤を添加し、ゲル化させる。これを乾燥させることにより目的とするポリアクリルアミドゲル乾燥体を得られる。

【0006】 生体触媒を固定化する場合には前記①、②、③とも原液に生体触媒を混合すればよい。ここで本発明において使用される生体触媒としては、特に制約はなく、いかなる微生物及び酵素も本発明により固定され得る。微生物の代表例を挙げれば、アスペルギルス(Aspergillus)属、リゾプス(Rhizopus)属等のかび類；シュー

ドモナス(Pseudomonas)属、アセトバクター(Acetobacto

r) 属、ストレプトマイセス(*Streptomyces*) 属、エシエリシア(*Escherichia*) 属等の細菌；サッカロマイセス(*Saccharomyces*) 属、キャンディダ(*Candida*) 属等の酵母を挙げることができる。また、酵素の代表例を挙げるならば、ラクテートヒドロゲナーゼ(1.1.2.3)、ラクテートオキシダーゼ(1.1.3.2)、グルコースオキシダーゼ(1.1.3.4)、ホルメートデヒドロゲナーゼ(1.2.1.2)、アルデヒドデヒドロゲナーゼ(1.2.1.3)、アルデヒドオキシダーゼ(1.2.3.1)、キサンチンオキシダーゼ(1.2.3.2)、ビルビン酸リダクターゼ(1.2.4.1)、コルチゾン- α -リダクターゼ(1.3.1.4)、アシルCoA-デヒドロゲナーゼ(1.3.99.3)、3-ケトステロイド Δ^1 -デヒドロゲナーゼ(1.3.99.4)、3-ケトステロイド Δ^1 -デヒドロゲナーゼ(1.3.99.5)、L-アラニンデヒドロゲナーゼ(1.4.1.1)、L-グルタミン酸デヒドロゲナーゼ(1.4.1.3)、L-アミノ酸オキシダーゼ(1.4.3.2)、D-アミノ酸オキシダーゼ(1.4.3.3)、ピリドキサルリン酸オキシダーゼ(1.4.3.5)、カタラーゼ(1.11.1.6)、カテコールメチルトランスフェラーゼ(1.11.1.6)、カルニチンアセチルトランスフェラーゼ(2.3.1.7)、アセチルCoAアセチルトランスフェラーゼ(2.3.1.9)、アスベルテートアミノトランスフェラーゼ(2.6.1.1)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(2.6.1.2)、ピリドキサミンビルベートトランスフェラーゼ(2.6.1)、ヘキソキナーゼ(2.7.1.1)、グルコキナーゼ(2.7.1.2)、フルクトキナーゼ(2.7.1.4)、ホスホグルコキナーゼ(2.7.1.10)、ホスホフルクトキナーゼ(2.7.1.11)、ビルベートキナーゼ(2.7.1.40)、カルボキシエステラーゼ(3.1.1.1)、アリアルエステラーゼ(3.1.1.2)、リパーゼ(3.1.1.3)、ホスホリパーゼA(3.1.1.4)、アセチルエステラーゼ(3.1.1.6)、コレステロールエステラーゼ(3.1.1.13)、グルコアミラーゼ(3.2.1.3)、セルラーゼ(3.2.1.4)、イヌラーゼ(3.2.1.7)、 α -グルコシダーゼ(3.2.1.20)、 β -グルコシダーゼ(3.2.1.21)、 α -ガラクトシダーゼ(3.2.1.22)、 β -ガラクトシダーゼ(3.2.1.23)、インベルターゼ(3.2.1.26)、ペプシン(3.4.4.1)、トリプシン(3.4.4.4)、キモトリプシンA(3.4.4.5)、カテプシンA(3.4)、パバイン(3.4.4.40)、トロンピン(3.4.4.13)、アミダーゼ(3.5.1.4)、ウレアーゼ(3.5.1.5)、ペニシリンアシダーゼ(3.5.1.1)、アミノアシラーゼ(3.5.1.14)、アデニンデアミナーゼ(3.5.4.2)、A. T. Pアーゼ(3.6.1.3)、ビルベートデカルボキシラーゼ(4.1.1.1)、オキザレートデカルボキシラーゼ(4.1.1.2)、トリプトファンデカルボキシラーゼ(4.1.1.27)、アルドラーゼ(4.1.2.1.3)、マレットトシュダーゼ(4.1.3.2)、トリプトファンシンターゼ(4.2.1.20)、アスベルターゼ(4.3.1.1)、リジンラセマーゼ(5.1.1.5)、グルコース-6-リン酸イソメラーゼ(5.3.1.9)、ステロイド Δ -イソメラーゼ(5.3.3.1)、マクシニルCoAシンセターゼ(6.2.1.5)、[(註)カッコ内の数字は酵素番号を表わす]などが挙げられる。

【0007】また、①、②、③の各原液にはゲル化を阻害しない範囲で、生体触媒の培地、担体の強度を上げるための補強剤、比重を調整するための充填材等及び着色用顔料を添加してもよい。担体の形状は球状、繊維状、円盤状、サイコロ状、シート状、管状等任意の形状でよいが、これらの形状に成形しやすくするため、各原液に少なくとも1種のカロチンとの接触によりゲル化する能力のある水溶性高分子多糖類を混合してもよい。これをカチオン含有化合物に接触させると、高分子多糖類がゲル化し任意の形に成形することができる。少なくとも1種のカチオンとの接触によりゲル化する能力のある水溶性高分子多糖類としては、具体的には水溶性アルギン酸塩、カラギーナン、マンナン、キトサン等が挙げられる。カチオン含有化合物としては、具体的には、カルシウムイオン、マグネシウムイオン、ストロンチウムイオン、バリウムイオン、アルミニウムイオン、カリウムイオン、セリウムイオン、ニッケルイオン等の金属カチオン；アンモニウムイオンなどのカチオン；アンモニウムイオンなどのカチオンのうちの少なくとも1種を含有する化合物が挙げられる。

【0008】①におけるPVAの離液作用のある化合物水溶液としては、硫酸ナトリウム、硫酸アンモニウム、硫酸カリウム、硫酸マグネシウム、硫酸アルミニウム、クエン酸ナトリウム、クエン酸アンモニウム、クエン酸カリウム、クエン酸マグネシウム、クエン酸アルミニウム、酒石酸ナトリウム、酒石酸アンモニウム、酒石酸カリウム、酒石酸マグネシウム、酒石酸アルミニウム等の化合物のうち少なくとも1種を含有する液体が挙げられる。

【0009】②、③における重合開始剤としては、 β -ジメチルアミノプロピオニトリル、NNN'-N'-テトラメチルエチレンジアミン等、また、重合促進剤としては過硫酸カリウム、過硫酸アンモニウムが挙げられる。

【0010】①、②、③の各高分子ゲルの乾燥方法は、自然乾燥、減圧乾燥、加熱乾燥、凍結乾燥等が挙げられるが、加熱・凍結の場合は高分子や生体触媒に悪影響を与えない温度で行なわなければならない。このようにして得られた高分子ゲル乾燥体は、常温の水に浸漬すると形状・性質が元に戻ることから、保存、輸送が非常に容易になり、高分子ゲルの実用性が高まる。

【0011】

【実施例】以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例により限定されるものではない。

実施例1

(株)クラレ製のPVA(平均重合度1740、ケン化度99.85モル%)を40℃の温水で約1時間洗浄後、PVA濃度16wt%になるように水を加え、オートクレーブ中で130℃、30分処理してPVA水溶液400gに対し、アルギン酸ナトリウム8gを加え、更に(株)クラレ岡山工場(岡山市海岸

5

通り1丁目2番1号)の排水処理槽より採取し、濃縮操作を施して得られた活性汚泥(MLSS 40000mg/l)を400g加え、充分に攪拌させた。この微生物混合液を内径2mmφのビニル管1本を使用したローラーポンプで2ml/分で送液し、内径1mmの注射針の先より押し出すことにより、0.2mol/lのCaCl₂水溶液に液表面から5cmの高さより滴下させた。滴下液はCa²⁺イオンの凝固作用でだちに球状化し、沈降した。これらの球状化したPVA混合成形物を全量CaCl₂水溶液と分離し、蒸留水で軽く洗浄した後、スターラーで攪拌した飽和Na₂SO₄水溶液に60分浸漬することによって、不透明な褐色の柔軟性に富んだ球状のゲルが得られた。

【0012】このゲルは球状に成形され、粘着性もない。このゲルの粒径は3.0~3.4mmφであり、含水率は91重量%であった。この球状ゲル1000個の重量は18.0g、体積は17.6cm³であった。これを30℃乾燥室内で24時間乾燥させた。この乾燥体の含水率は5.0重量%であった。更に、常温、空気中で100日間放置した後、20℃の純水に浸漬し、24時間放置したところ、含水率91重量%及び粒径3.0~3.4mmφの含水ゲルが得られた。ゲルの形状、大きさは乾燥前の状態に戻り、触感による弾力性も乾燥前と差がなかった。この球状ゲル1000個の重量は18.1g、体積は17.6cm³であった。

【0013】乾燥及び保存の微生物への影響を調べるためゲル中の生菌数を測定した。ゲル1gを9mlの滅菌水とともにホモジナイザー(15000rpm、10分間)で均一に分散させた後、滅菌水で適宜希釈し、その0.1mlを普通寒天培地へ広げ、30℃恒温槽で24時間培養後、出現したコロニーの数と希釈倍率からゲル中の生菌数を求めた。結果を表1に示す。

【0014】比較例1

実施例1の乾燥前の状態のゲルについて常温純水中で100日間放置した後、実施例1と同様の生菌数測定を行なった。その結果を表1に示す。

【0015】実施例2

アクリルアミドモノマー144g、メチレンビスアクリルアミド8gに水を加えて400gとし完全に溶解させた。これに実施例1と同様の活性汚泥(MLSS 40000mg/l)を400g加え、充分に攪拌させた。この混合液に重合促進剤としてNNN'-N'-テトラメチルエチレンジアミン0.5%、重合開始剤として過硫酸カリウムを0.25%添加し、攪拌後、平面上に流延し、室温で重合させ、厚さ3.0~3.2mmのシート状に成形した。これを1辺3.0~3.2mmのサイコロ状に切断し、含水率82重量%の含水ゲルを得た。このサイコロ状ゲル1000個の重量は30.0g、体積は27.3cm³であった。これを30℃乾燥室内で24時間乾燥させた。この乾燥体の含水率は4.6重量%であった。

【0016】これを常温の空気中で100日間放置した後、純水に浸漬して24時間放置したところ、含水率81重量%及び1辺3.0~3.2mmのサイコロ状の含水ゲルが得られ

6

た。ゲルの形状、大きさは乾燥前と差がなかった。このサイコロ状ゲル1000個の重量は27.1g、体積は27.0cm³であった。乾燥及び保存の微生物への影響を調べるため実施例1と同様の生菌数測定を行なった。その結果を表1に示す。

【0017】比較例2

実施例2の乾燥前の状態のゲルについて常温純水中で100日間放置した後、実施例1と同様の生菌数測定を行なった。結果を表1に示す。

10 【0018】実施例3

ポリエチレングリコールジメタクリレート144gに水を加えて400gとし完全に溶解させた。これに実施例1と同様の活性汚泥(MLSS 40000mg/l)を400g加え、充分に攪拌させた。この混合液に重合促進剤として、NNN'-N'-テトラメチルエチレンジアミン0.5%、重合開始剤として過硫酸カリウムを0.25%添加し、攪拌後、平面上に流延し、室温で重合させ、厚さ3.0~3.2mmのシート状に成形した。これを1辺3.0~3.2mmのサイコロ状に切断し、含水率83重量%の含水ゲルを得た。このサイコロ状ゲル1000個の重量は29.5g、体積は26.8cm³であった。これを30℃乾燥室内で24時間乾燥させた。この乾燥体の含水率は4.8重量%であった。

【0019】これを常温、空気中で100日間放置した後、20℃純水に浸漬し、24時間放置したところ、含水率82重量%及び1辺3.0~3.2mmのサイコロ状含水ゲルが得られた。ゲルの形状、大きさは乾燥前の状態に戻り、触感による弾力性も乾燥前と差がなかった。このサイコロ状ゲル1000個の重量は29.0g、体積は26.5cm³であった。乾燥及び保存の微生物への影響を調べるため実施例1と同様の生菌数測定を行なった。その結果を表1に示す。

【0020】比較例3

実施例3の乾燥前の状態のゲルについて常温純水中で100日間放置した後、実施例1と同様の生菌数測定を行なった。結果を表1に示す。

【0021】

【表1】

	生 菌 数 (cells/g)	
	製 造 直 後	100日 保 存 後
実施例1	2.9×10^7	3.0×10^7
" 2	4.4×10^6	4.2×10^6
" 3	1.5×10^7	1.3×10^7
比較例1	2.9×10^7	6.0×10^6
" 2	4.4×10^6	2.7×10^6
" 3	1.5×10^7	5.1×10^6

【0022】

【発明の効果】本発明の高分子ゲルは、上記の実施例から明らかなように、保存・輸送が非常に容易になり、生体触媒を固定した場合でも活性を保持したまま保存する

ことが可能である。

フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁵

C 0 8 L 71/02

C 1 2 N 11/08

識別記号

L Q D

庁内整理番号

9167-4J

F I

技術表示箇所

C 2121-4B

E 2121-4B